

Correlación histológica-microbiológica en el diagnóstico de *Helicobacter pylori*

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, diagnóstico histológico, prueba de cultivo, cristal violeta.

Key words: *Helicobacter pylori*, histic diagnosis, culture test, violet crystal.

Recibido: 24/07/2010

Aceptado: 27/08/2010

Este artículo también puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica/>

Jacqueline Amores Carraté,* Alfredo Arredondo Bruce,**
Bárbara Martínez Hiriart,*** Yaser Estrada Nápoles,***
Lizandra Pereira Corzo.*** Anacela Potente Hernández***

* Hospital Provincial «Manuel Ascunce Domenech».

** Hospital Universitario «Amalia Simoni».

*** Universidad de Ciencias Médicas «Carlos J Finlay».

Correspondencia:

Jacqueline Amores Carraté

Santa Rita # 16 B Alto entre República y Santa Rosa.

Camagüey, Cuba.

E-mail: jamoresinlay.cmw.sld.cu

135

Resumen

Helicobacter pylori y su potencial patogénico ha sido la causa de múltiples enfermedades del estómago y duodeno. Su relación con la enfermedad ulceropéptica ha sido la más estudiada, pero también ha sido relacionada con otras enfermedades. Sin embargo, muchas de estas asociaciones aún permanecen sin una demostración segura, y el debate para su confirmación aún continúa. La prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en el mundo es elevada, existiendo un gran número de reportes. Nuestro país no está exento de esto con un alto porcentaje de infección por esa bacteria. Camagüey exhibe un incremento alarmante de pacientes afectados por esta causa, motivo por el cual se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal. De 107 pacientes que acudieron a los Servicios de Endoscopias de los Hospitales Universitarios «Manuel Ascunce Domenech» y «Amalia Simoni» 17 cumplieron los criterios para el estudio. El grupo etario más representado fue el de 46 a 60 años, con un leve predominio del sexo masculino. El diagnóstico endoscópico predominante fue gastritis crónica y esofagitis de reflujo, les siguieron úlcera duodenal y duodenitis. La prueba de cultivo no fue efectiva en la mayoría de los casos. Aunque la técnica endoscópica con

Abstract

Helicobacter pylori and its pathological potential has been the cause of multiple diseases of the stomach and duodenum. Its relationship with peptic ulcer disease has been the most studied one, but it has also been related with other illnesses. However, many of these associations even remain without a sure demonstration, and the debate for their confirmation even continues. The incidence of the *Helicobacter pylori* infection in the world is high existing a great number of reports; our country is not exempt of this, with a high percent of infection for this bacteria. Camagüey exhibits an alarming increment of patients affected by this cause, and for that reason was carried out a descriptive transverse observational study. From 107 patients that went to the Services of Endoscopy of the University Hospitals «Manuel Ascunce Domenech» and «Amalia Simoni» 17 completed the approaches for the study. The patients that had an age between 46 and 60 years constitute the most representative group, with a light prevalence of the male sex, the predominant endoscopic diagnosis was the chronic gastritis and the reflux esophagitis, followed by the duodenal ulcer and the duodenitis, the culture test was not effective in most of the cases. Although the endoscopic technique with

el método de tinción de cristal violeta es un procedimiento invasivo, se justifica su utilización por la especificidad para diagnóstico rápido en la infección por *Helicobacter pylori*, además de las ventajas económicas que ofrece con respecto a otros métodos de tinción.

the method of Violet Crystal stain is an invasive procedure its use is justified by its specificity for the quick diagnosis in the *Helicobacter pylori* infection, besides the economic advantages that it offers in regard to another stain methods.

Introducción

La infección por *Helicobacter pylori* está ampliamente diseminada, su prevalencia a nivel mundial es de 30 a 50%, presentando variaciones en todo el planeta. Existe una relación inversa entre el grado de infección con esta bacteria y el nivel socioeconómico de la región.¹⁻⁸ El *Helicobacter pylori* y su potencial patogénico ha sido la causa de múltiples enfermedades del estómago y duodeno.¹⁻⁴

En Cuba aparece en edades más tardías que en otros países del Tercer Mundo con un bajo nivel higiénico.⁵ En los países desarrollados, la infección por este agente patógeno es poco frecuente en niños y aumenta gradualmente en función de la edad, llegando a alcanzar 30% de infestación a los 30 años de edad, valor que se mantiene constante hasta edades mayores. En los países en desarrollo, la mayor parte de sus habitantes se encuentran infectados independientemente de la edad, llegando esta infestación a valores cercanos a 70%.⁶

El reservorio natural es el estómago de la persona infectada, la cual puede permanecer asintomática durante años, instalándose por el resto de la vida del hombre, pues el sistema defensivo no se activa con la fuerza requerida para eliminar la bacteria. La saliva, las heces fecales y las manos contaminadas del portador son las fuentes contaminantes de alimentos, agua y objetos con los cuales se entra en contacto, trasmitiéndose así de individuo a individuo. Las vías más posibles de transmisión son la oral-oral y la fecal-oral.⁷ Su relación con la enfermedad ulceropéptica ha sido la más estudiada, pero esta bacteria también ha sido relacionada con otras

entidades como el cáncer gástrico y las gastritis, además de enfermedades extradigestivas como linfomas, coronaritis, reflujo gastroesofágico, anemia ferripriva, deficiencias vitamínicas, enfermedades de la piel y reumatológicas. Sin embargo, muchas de estas asociaciones aún permanecen sin una demostración segura, y el debate para su confirmación aún continúa.^{8,9}

La fuerte asociación existente entre el *Helicobacter pylori* y el cáncer gástrico ha permitido que sea declarado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como carcinógeno clase I.¹⁰

Se plantea que el nivel socioeconómico y educativo junto con la edad, constituyen los factores de riesgo más importantes para la adquisición de la infección por *H. pylori*.¹¹

No existe un método que pueda calificarse de ideal para diagnosticar la infección por *Helicobacter pylori* y que reúna todas las cualidades necesarias para afrontar las diferentes situaciones clínicas que se presentan durante la evolución de la infección.

Entre los métodos de tinción más utilizados en la actualidad están hematoxilina y eosina, Giemsa y Warthin-Starry, así como las tinciones inmunohistoquímicas. Ninguna de las tinciones es específica para el *Helicobacter pylori*.¹²

En esta investigación se ha empleado un nuevo método de tinción, nunca aplicado en nuestros medios; un colorante específico, cristal violeta para el diagnóstico del *Helicobacter pylori*, con el objetivo de correlacionar el cultivo microbiológico con el daño histológico para su diagnóstico. Hasta la fecha en la provincia no se ha realizado ningún estudio que demuestre la efectividad de su aplicación en el diagnóstico de la bacteria más extendida a nivel mundial. Por tal situación consideramos oportuno la realización de este trabajo.

Material y métodos

Estudio observacional, descriptivo, de corte transversal.

El universo de estudio lo representaron 107 pacientes que acudieron al Servicio de Endoscopia de los Hospitales Universitarios «Amalia Simoni» y «Manuel Ascunce Domenech», a los cuales se les realizó endoscopia diagnóstica del tracto digestivo superior.

La muestra de investigación la constituyeron 17 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión: Edad mayor de 15 años; diagnóstico histológico positivo a la infección por *Helicobacter pylori*; no haber recibido tratamiento con antimicrobianos, omeprazol o derivados del bismuto. Fueron excluidos los casos con historia clínica que estuvieran incompletas o que no se encontraran en el archivo.

A estos pacientes se les realizó la toma de muestra de aproximadamente 4 mm cada una en número de seis especímenes y se analizó en los Departamentos de Anatomía Patológica y Microbiología. Fue sometida al proceso de inclusión en parafina y coloración con los reactivos de cristal violeta y hematoxilina y eosina, analizada por un patólogo debidamente adiestrado y por otra parte se enviaron muestras al Departamento Provincial de Microbiología donde se procedió a la realización del cultivo.

Se obtuvo el consentimiento informado de los pacientes que participaron en el estudio. Todos los datos obtenidos se manejaron de manera confidencial.

Las fuentes secundarias de información fueron los informes de biopsias y las historias clínicas (HC).

Las variables estudiadas fueron: grupos de edades, sexo, diagnóstico endoscópico, diagnóstico microbiológico por cultivo y métodos de tinción más empleados para el diagnóstico del *H. pylori*.

Se utilizó estadística descriptiva en forma de frecuencia absoluta y porcentajes. Para conocer la utilidad del método diagnóstico estudiado (cultivo)

en el diagnóstico del *H. pylori* se calculó el valor de la sensibilidad, considerando como prueba «estándar de oro» la biopsia. Para ello se siguió la formulación sugerida por Morales Jiménez.¹³

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Enfermos con la prueba positiva}}{\text{Total de enfermos}}$$

A mayor sensibilidad y especificidad mayor poder discriminatorio tiene la prueba evaluada. Los datos se procesaron con el programa Microsoft Excel de Office 2007, con el cual se diseñaron tablas.

Resultados

La distribución de acuerdo a la edad fue la siguiente: un caso (5.9%) en el grupo de edad de 15 a 30 años, seis (35.3%) en el de 31 a 45 años, nueve (52.9%) en el de 46 a 60 y uno en el grupo de 61 a 75 años.

Nueve (52.9%) de los pacientes correspondieron al sexo masculino y ocho (47.1%) al femenino.

La distribución de la muestra según el diagnóstico endoscópico se muestra en el cuadro I. La mayor frecuencia correspondió a sujetos con gastritis crónica.

Doce (70.6%) pacientes resultados negativos al *Helicobacter pylori* en el estudio microbiológico por cultivo y cinco (29.4%) fueron positivos.

Hubo coincidencia entre el método histológico y el microbiológico por cultivo en cinco (29.4%) casos y 12 (70.6%) no coincidieron. De acuerdo con esto, la sensibilidad fue de 0.29. El costo económico por tinción se muestra en el cuadro II.

137

Cuadro I. Distribución de la muestra según el diagnóstico endoscópico.

Diagnóstico	n	%
Gastritis crónica	9	52.9
Úlcera duodenal	2	11.8
Duodenitis	2	11.8
Úlcera gástrica	1	5.9
Esofagitis de reflujo	3	17.6
Total	17	100

Cuadro II. Distribución de las tinciones más utilizadas para el diagnóstico del *Helicobacter pylori* según su costo económico (en dólares americanos). Costo estimado por cada 100 tinciones.

Tinción	Costo
Warthin-Starry	5,164.00
Hematoxilina y eosina	31.64
Gram	3.55
PAS 25 GR	2.33
Cristal violeta	0.71

Discusión

La infección por *Helicobacter pylori* está ampliamente diseminada, su prevalencia a nivel mundial es de 30 a 50%, presentando variaciones en todo el planeta, lo que en gran medida depende del estándar global de vida en cada región. Existe una relación inversa entre el grado de infección con esta bacteria y el nivel socioeconómico de la región. En los países desarrollados, la infección por este agente patógeno es poco frecuente en niños, pero aumenta gradualmente en función de la edad, llegando a alcanzar niveles de 30% de infestación a los 30 años de edad, valor que se mantiene constante hasta edades mayores. En los países en desarrollo, la mayor parte de sus habitantes se encuentran infectados, independientemente de la edad, llegando esta infestación a valores cercanos a 70%.¹³

En la muestra estudiada se encontró una alta incidencia en los pacientes mayores de 45 años de edad, observándose una mayor incidencia en los grupos de 31 a 45 y de 46 a 60 años, coincidiendo con la literatura revisada.^{12,14,16}

En Cuba sucede en edades más tardías que en otros países del Tercer Mundo con un bajo nivel higiénico.¹⁶ En zonas en desarrollo, 80% de la población puede estar infectada al cumplir 20 años, en tanto que la prevalencia es de 20 a 50% en países industrializados. El índice de infección por *Helicobacter pylori* en países industrializados

ha disminuido en grado sustancial en los decenios recientes.

Dos factores que predisponen a índices mayores de colonización son el estatus socioeconómico y los niveles educativo bajos.¹⁷

En el grupo estudiado no se encontraron diferencias significativas en relación al sexo, aunque hubo ligero predominio del género masculino. Diferentes reportes en la literatura reflejan ausencia de diferencias entre sexos.¹⁸⁻²⁰

González-Carvajal y otros investigadores plantean que el sexo no parece ser una cuestión importante en relación con la prevalencia de la infección. Dos estudios difieren ligeramente al encontrar un discreto predominio de la infección en el sexo femenino y el otro en el sexo masculino, pero sin existir asociación estadística significativa entre sexo y presencia de *Helicobacter pylori*.^{15,21}

Varios estudios recientes se focalizan en la influencia del género en la prevalencia de *Helicobacter pylori*. En un gran meta-análisis que incluye 18 poblaciones adultas y 10 pediátricas, Martel y Parsonnet observaron como fenómeno global y homogéneo un predominio de enfermos del sexo masculino en adultos. Sin embargo, un influjo similar no es encontrado en niños. Los autores plantean la hipótesis que las diferencias en la exposición a antibióticos o en la inmunidad protectora entre sexos pudieran explicar los resultados en las dos poblaciones.²² Un predominio de infección por *Helicobacter pylori*, en el citado sexo fue también encontrado en dos estudios: uno realizado en Hyderabad, Sur de la India, por Ahmed y colaboradores; y el otro en una comunidad al Oeste de Groenlandia.^{23,24}

En cuanto al diagnóstico endoscópico, se observa un elevado porcentaje de gastritis, esofagitis de reflujo, úlceras duodenales y duodenitis, que son cifras que se asemejan a las estadísticas mundiales donde se puede apreciar la alta frecuencia de gastritis y enfermedad ulceropéptica en la población.²⁷⁻²⁹ La coincidencia entre el diagnóstico endoscópico y la aparición del germen en el grupo de pacientes con gastritis crónica fue similar a la registrada por

otros autores y la tasa de infección por *Helicobacter pylori* entre los pacientes portadores de una úlcera duodenal es similar a la encontrada en otras series.³⁰⁻³² La cantidad encontrada en las duodenitis, las cuales generalmente son parasitarias por *Giardia lamblia*, se debe a que el germen se asocia a la misma en una metaplasia gástrica, lo que sería premonitorio de una úlcera duodenal y, en ocasiones, juega un papel causal directo o indirecto en la producción de la lesión duodenal.³³

Durante la década de los 80, la infección por *Helicobacter pylori* fue encontrada en más de 90% de los pacientes con úlcera duodenal, y 70% padecían de úlcera gástrica. La declinación de la prevalencia e incidencia en países desarrollados es paralela a la disminución de la presencia de *H. pylori*, especialmente dentro de la población con alta incidencia. Solamente la erradicación del *H. pylori* es efectiva para la curación de la enfermedad ulceropéptica.^{34,35}

La colonización de la mucosa gástrica por *Helicobacter pylori* induce invariablemente una reacción inflamatoria de carácter agudo y difuso en cuerpo y antró. Este infiltrado inflamatorio puede ocupar toda la superficie de la mucosa y la zona foveolar, pero no afecta la zona glandular. En la progresión de la inflamación, el infiltrado inflamatorio se extiende a toda la profundidad de la mucosa llegando a formar folículos linfoides. No es infrecuente observar disminución de la capa de moco y aparición de erosiones en el epitelio superficial.³⁶ Para el diagnóstico histológico de *Helicobacter pylori* se ha comenzado a utilizar el cristal violeta, corroborado por la tinción de hematoxilina y eosina, el cual ha resultado muy eficaz para su diagnóstico, con altos porcentajes de coincidencia comparado con otros métodos clásicos.³⁷

Entre los métodos de tinción más utilizados en la actualidad están la tinción con hematoxilina y eosina, Giemsa y Warthin-Starry, aunque también se han empleado las tinciones inmunohistoquímicas. Ninguna de las tinciones es específica para

Helicobacter pylori, pero permiten identificarlo reconociendo sus características y localización. Debido al elevado costo de la aplicación de técnicas histológicas se ha sugerido que esta técnica no debe emplearse en forma rutinaria, reservándose sólo para los casos en que el test rápido de ureasa (menos costoso) fuera negativo.^{38,39} Sin embargo, la propuesta que se intenta afianzar en este estudio es una tinción mucho más económica y que proporciona diagnósticos de tipo mítico, acuciosos y seguros.

La tinción de plata de Warthin-Starry, utilizada habitualmente, es relativamente complicada de realizar, laboriosa y tiene un elevado costo. Ello hace que no se utilice como técnica de rutina, reservándose para aquellos casos en que existan dudas diagnósticas.⁴⁰

La tinción con hematoxilina-eosina es la más utilizada. Su principal ventaja consiste en que permite el diagnóstico y la graduación de la lesión histológica asociada; tiene como inconveniente que requiere una experiencia superior a la de otras técnicas para establecer un correcto diagnóstico en la presencia del *Helicobacter pylori*. Tiene, además, la desventaja que debe existir una alta densidad de colonias bacterianas para que sea posible reconocer el microorganismo, el cual queda teñido débilmente y puede confundirse con productos celulares y moco.⁴¹ Por estas razones, algunos patólogos recomiendan realizar siempre una tinción especial además de hematoxilina y eosina.

Se han propuesto otras técnicas con diferentes resultados, como la tinción con naranja de acridina, la de Brown-Hopps, la coloración de Giménez, el acetato de crisil violeta o la tinción con azul de metileno, entre otras. Por último, se han estudiado técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, utilizando anticuerpos monoclonales o policlonales frente a *Helicobacter pylori*.⁴²

La técnica de tinción del cristal violeta es utilizada de rutina en el Departamento Provincial de Microbiología para el diagnóstico del *Campylobacter yeyuni*. Con base en esa experiencia se

intentó aplicarla al *Helicobacter pylori*, donde se obtuvieron resultados muy seguros comparados con la técnica de hematoxilina y eosina, utilizándola tanto en frotis microbiológicos como en tinción histológica.

Para lograr el aislamiento de *Helicobacter pylori* se han utilizado diferentes medios de cultivo, selectivos y no selectivos. Entre los numerosos medios que se han utilizado para el aislamiento de la bacteria se encuentran diferentes formulaciones de agar base, como infusión de cerebro corazón, Columbia, Brucella, Müller-Hinton y GC-agar, suplementados con 5-10% de sangre de carnero o caballo y otros suplementos como hemoglobina, isovitalex, ciclodextriana, etcétera.⁴³

Para evitar el sobrecrecimiento bacteriano, relativamente frecuente, tanto por contaminantes exógenos como endógenos presentes en la muestra de biopsia, se recomienda la utilización de medios de cultivo selectivos, como el de Skirrow, que añaden al medio nutritivo un suplemento antibiótico.⁴⁵

En el presente estudio se comprobó que el cultivo del germen no constituye un método eficaz en nuestro medio, ya que sólo fueron positivos cinco (29.4%) casos, mientras que los 12 (70.6%) restantes resultaron negativos. Puede considerarse como un método tedioso e incluso de difícil realización, puesto que *H. pylori* es un microorganismo exigente en cuanto a sus condiciones de cultivo y requiere suplementos para su crecimiento, como sangre de carnero o caballo o suero fetal bovino, un periodo de incubación extraordinariamente prolongado (de 7 a 10 días a 35 °C) comparado con el resto de las bacterias Gram negativas.⁴⁵⁻⁴⁷

La muestra más habitual para el cultivo de *H. pylori* es la biopsia a partir de mucosa gástrica. El microorganismo se encuentra predominantemente en la parte antral del estómago, excepto en individuos tratados con inhibidores de la bomba de protones y antihistamínicos anti-H2, en los que se encuentran densidades más grandes en el cuerpo. Al ser un microorganismo lábil, el procesamiento

de la muestra debe realizarse de una forma rápida una vez que ésta ha sido obtenida.⁴⁸

El cultivo tiene además el inconveniente de que la obtención de la muestra es mediante un procedimiento invasivo y, por tanto, no son aplicables a portadores sanos. Adicionalmente, representan el resultado local de la muestra del estómago utilizada y no de todo el órgano, por lo que es susceptible de mostrar falsos negativos.⁴⁹

Como se planteó anteriormente, el cultivo en nuestro medio no se considera como una prueba confiable para el diagnóstico del *Helicobacter pylori*, ya que, además de los inconvenientes que presenta, está el hecho de lo difícil que resulta adquirir todos los recursos requeridos y crear las condiciones adecuadas para su proliferación en el laboratorio. En el presente estudio, este método obtuvo una sensibilidad de 0.29.

En la práctica clínica no es necesaria la realización rutinaria del cultivo antes de la administración de un primer tratamiento erradicador, puesto que con el tratamiento empírico, sin conocer las resistencias bacterianas mediante el cultivo, se obtiene la erradicación de *Helicobacter pylori* en un elevado porcentaje de pacientes.⁵⁰

El cultivo estaría más claramente indicado tras un fracaso erradicador; si bien parece recomendable emplearlo en algunos centros especializados para conocer la prevalencia de resistencias y su evolución con el paso del tiempo, así como la influencia de la resistencia en la eficacia terapéutica.⁵¹

Recientemente se ha propuesto un nuevo método diagnóstico con capacidad de demostrar directamente la presencia de *Helicobacter pylori* sin necesidad de realizar una endoscopia, el denominado «enterotest» o «prueba del hilo», que permite la realización de antibiogramas en las muestras obtenidas. Esta técnica, aunque potencialmente útil en algunas circunstancias, debe ser más ampliamente validada antes de poder recomendarla definitivamente.⁵²

El método considerado en la actualidad como el estándar de oro es la prueba del aliento, que utiliza

urea marcada con ^{13}C ó ^{14}C . A diferencia de otros métodos, un resultado positivo con la prueba del aliento es confirmatorio de contaminación.⁵³ El Laboratorio de Radioisótopos de la Universidad de Buenos Aires ha propuesto una modificación de este método, con la cual se suministra conjuntamente una solución de urea marcada con ^{14}C y un coloide de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ que no se absorbe en el aparato digestivo. Este coloide posibilita la visualización de la solución de urea dentro del aparato digestivo mediante la utilización de una cámara gamma, lo cual permite localizar exactamente el sitio donde se está produciendo el $^{14}\text{CO}_2$ como consecuencia de la hidrólisis de la urea por *Helicobacter pylori*. Esta combinación de la prueba del aliento con ^{14}C -urea y la visualización del desplazamiento intragástrico de la solución de urea- ^{14}C permitió elevar la sensibilidad del método a 98% y la especificidad a 96%.⁵⁴

La coloración de Warthin-Starry tiene un costo de 51.64 dólares americanos (USD) por caso, la de hematoxilina y eosina 0.31 y el PAS 0.02; mientras que el cristal violeta sólo cuesta 0.0071 por muestra, lo que significa una mayor utilidad económica sobre los otros medios diagnósticos.

El promedio de endoscopias en el Hospital Amalia Simoni es de 2,160 anuales. El realizar el diagnóstico de *Helicobacter pylori* a cada paciente por este método sólo representaría un gasto de 15.36 USD; si se usara el método de hematoxilina y eosina el gasto sería de 669.60, por lo que el método propuesto aportaría un ahorro franco de 654.24 USD; pero si se compara con el método de Warthin-Starry, el cual representaría un gasto de 111,542.40, el ahorro al aplicar la técnica propuesta sería de 111,527.04 USD.

Conclusión

La técnica de tinción cristal violeta proporciona especificidad diagnóstica, facilitando la efectividad terapéutica con un mínimo de costos.

Referencias

- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315.
- Marshall BJ et al. Pyloric *Campylobacter* infection and gastroduodenal disease. *Med J Aust* 1985; 142: 439-444.
- Alexander GA, Brawley OW. Association of *Helicobacter pylori* infection with gastric cancer. *Mil Med* 2000; 165 (1): 21-27.
- Arredondo BA, Amores CJ. Historia, presente y pasado del *Helicobacter pylori*. Software educativo. Disponible en: <http://www.finlay.cmv.sld.cu>
- Mendoza RA, Cabalé BM, Fernández GME. *Helicobacter Pylori* y su relación con las lesiones gástricas. Hospital General «Lucía Iñiguez». Año 2001. *Correo Científico Médico de Holguín* 2003; 7 (2).
- Pounder RE, Ng D. The prevalence of *H. pylori* infection different countries. *Aliment Pharmacol Therapy* 1995; (2): 33-39.
- Disponible en: <http://es.wikipedia.org>
- Davydov L, Cheng JW. The association of infection and coronary artery disease: An update. *Expert Opin Investig Drugs* 2000; 9 (11): 2505-2517
- Ercan I, Cakir BO, Uzel TS et al. The role of gastric *Helicobacter pylori* infection in laryngopharyngeal reflux disease. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 135 (1): 52-55.
- Katanga F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: Defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2137-2150.
- Pounder RE, Ng D. The prevalence of *H. pylori* infection different countries. *Aliment Pharmacol Therapy* 1995; (2): 33-39.
- Linfoma tipo MALT de localización gástrica- infección por *Helicobacter Pylori*. Retos para el siglo XXI. Disponible en: www.helicobacterspain.es
- Morales JEL. Nociones de Estadística para Profesionales de la Salud. 2006. p. 184-194.
- De Boer WA, Tytgat GNJ. Regular new: Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ* 2000; 320: 31-34.
- González-Carbajal PM. Aspectos epidemiológicos de mayor relieve de la infección por *Helicobacter pylori*. En: González-Carbajal M. *Helicobacter pylori ¿El tercer dogma?* Madrid: Autores Productores Asociados; 2003. p. 83-112.
- Macenille GR, Gayoso DP, Sueiro BRA, Fernández SJ. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población general adulta de la provincia de Ourense. *Rev Esp Enferm Dig [serie en Internet]*. 2006[cited 9 Nov 2009]; 98 (4): [aprox. 7p]. Available from: <http://scielo.isciii.es>.
- Zaterka S, Eisig JN, Chinzon D, Rothstein W. Factors related to *Helicobacter pylori* prevalence in an adult population in Brazil. *Helicobacter* 2007; 12: 82-8.
- Disponible en: <http://www.juventudtecnica.cu>
- González-Carbajal PM, Rojas ZF, Grá OB, Ávalos GR. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos. *Rev Panam Infectol* 2004; 6 (4): 8-14.
- Luján LJL, Lopez CJA, Muñoz E. (1994) STS Studies in Spain: A case study in STS transfer tecnoScience. 7/2: 14-16.
- Zubillaga M, Oliverti P, Calcagno ML, Coldman C, Caro R, Mitta A et al. Min ^{14}C -UBT: A combination of gastric basal transit and ^{14}C -Urea Breath Test for the detection of *Helicobacter pylori* infection in human beings. *Nuclear Med Biol* 1997; 24: 565-569.

22. Martel C, Parsonnet J. *Helicobacter pylori* infection and gender: A meta-analysis of population-based prevalence surveys. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 2292-301.
23. Ahmed KS, Khan AA, Ahmed I. Prevalence study to elucidate the transmission pathways of *Helicobacter pylori* at oral and gastroduodenal sites of a South Indian population. *Singapore Med J* 2006; 47: 291-296.
24. Koch A, Krause TG, Krogfelt K, Olsen OR, Fischer TK, Melbye M. Seroprevalence and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Greenlanders. *Helicobacter* 2005; 10: 433-442.
25. Ndip RN, MacKay WG, Farthing MJ, Weaver LT. Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: Review of microbiologic methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 616-622.
26. Vakil N, Vaira D. Non-invasive tests for the diagnosis of infection. *Rev Gastroenterol Disord* 2004; 4: 1-6.
27. You WC, Brown LM, Zhang L et al. Randomized double-blind factorial trial of three treatments to reduce the prevalence of precancerous gastric lesions. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 974-983.
28. Akhiani AA, Stensson A, Schon K, Lycke NY. IgA antibodies impair resistance against *Helicobacter pylori* infection: studies on immune evasion in IL-10-deficient mice. *J Immunol* 2005; 174: 8144-8153.
29. Sandler RS et al. The burden of selected digestive diseases in the United States. *Gastroenterology* 2002; 122: 1500-1511.
30. Robinson K, Loughlin MF, Potter R, Jenks PJ. Host adaptation and immune modulation are mediated by homologous recombination in *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis* 2005; 191: 579-587.
31. Rieder G, Merchant JL, Haas R. *Helicobacter pylori* cag-type IV secretion system facilitates corpus colonization to induce precancerous conditions in Mongolian gerbils. *Gastroenterology* 2005; 128: 1229-1242.
32. Mendoza RA, Cabalé BM, Fernández GME. *Helicobacter pylori* y su relación con las lesiones gástricas. Hospital General «Lucía Iñiguez». Año 2001. Correo Científico Médico de Holguín 2003; 7 (2).
33. Hernandez TM. *Helicobacter pylori*. La bacteria que más infecta al ser humano. *Rev Cubana Aliment Nutr* 2001; 15 (1): 42-54.
34. Farreras R. Medicina Interna. (CD ROM) 14a ed. Cap 21. Citado Sep 2009. Madrid, España: Editorial Harcourt. 2000.
35. Goldman: Cecil Medicine, (CD ROM) 23rd ed. Part XI. Chapter 141. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2007.
36. Deltenre M, Glupczynski Y, De Pérez C, Nyst JF, Burette A, Labbe M et al. The reliability of urease tests, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24 (suppl 160): 19-24.
37. Tummala S et al. Update on the immunologic basis of *Helicobacter pylori* gastritis. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20: 592-597.
38. Sonnenberg A, Everhart JE. The prevalence of self-reported peptic ulcer in the United States. *Am J Public Health* 1996; 86: 200-205.
39. Rauws EAJ. *Helicobacter pylori* 2. Diagnóstico. Curso de perfeccionamiento profesional. Aparato digestivo. Fundación Promedic-Promoción Médica; 1995; 11-13.
40. Jemal A. Report Sees 7.6 Million Global 2007. Cancer Deaths. Reuters. Health information. Medscape. On line, april, 2008.
41. Marshall BJ, Plankey MW, Hoffman SR, Boyd CL, Dye KR, Frierson NF et al. A 20-minute breath test for *H. pylori*. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 438-45.
42. Martín de Argila C, Boixeda D y Gisbert JP. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. En: Boixeda D, Gisbert JP, Martín de Argila C (eds). *Helicobacter pylori: ¿Dónde está el límite?* Barcelona: Prous Science; 1996. p. 93-114.
43. Makristathis A, Hirschl AM, Lehours P, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2004; 9: 7-14.
44. Glupczynski Y. Microbiological and serological diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: An overview. *Br Med Bull* 1998; 54: 175-186.
45. Ericson K, Nilbert M, Bladstrom A et al. Familial risk of tumors associated with hereditary nonpolyposis colorectal cancer: A Swedish population-based study. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 1259-1265.
46. Yuan Y and Hunt RH. Treatment of non-NSAID and non-*H. pylori* gastroduodenal ulcers and hypersecretory states. In: Wolfe MM et al (eds). *Therapy of digestive disorders*. 2nd ed. London, UK: Elsevier; 2006. p. 315-336.
47. Hansen MJ, Pedersen OB y Bytzer P. Changing characteristics of patients with bleeding peptic ulcer. *DDW* 2002, T1544.
48. Lujan LJL, Lopez CJA, Muñoz E. (1994): STS Studies in Spain: A case study in STS transfer tecnoscience. 7/2: 14-16.
49. Ogura K, Hirata Y, Yanai A et al. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on incidence of gastric cancer. *Gastroenterology* 2006; 130 (4 suppl 2): A183.
50. Versalovic J, Fox JG. *Helicobacter*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaffer MA, Yolken RH. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington: ASM Press; 2003. p. 915-928.
51. Ndip RN, MacKay WG, Farthing MJ, Weaver LT. Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: Review of microbiologic methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 616-622.
52. Domínguez MJE, Leodolter A, Sauerbruch T, Malfertheiner P. A citric acid solution is an optimal test drink in the ¹³C-urea breath test for diagnosis of *H. pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 459-462.
53. Boccio J, Zubillaga M. *Helicobacter pylori*. Conceptos actuales. Editorial. APPTLA 1997; 47: 194-196.
54. Zubillaga M, Oliverti P, Calcagno ML, Coldman C, Caro R, Mitta A et al. Min ¹⁴C-UBT: A combination of gastric basal transit and ¹⁴C-Urea Breath Test for the detection of *Helicobacter pylori* infection in human beings. *Nuclear Med Biol* 1997; 24: 565-569.